

(Aus dem Hygienisch-Bakteriologischen Institut der Universität Bern
[Direktor: Prof. Dr. C. Hallauer].)
(Arbeit unter Leitung von Herrn P.-D. Dr. B. Fust.)

Selektive Entkeimung der Kuhpockenlymphe mit Penicillin?

Inaugural-Dissertation

der Medizinischen Fakultät der Universität Bern
zur Erlangung der Würde eines Doctor Pharmaciae

vorgelegt von

Paul Grünig

Apotheker

von Burgistein (Kt. Bern)



Bern 1950

VERLAG VON S. KARGER IN BASEL

Auf Antrag von Herrn Prof. Dr. *Hallauer* durch die Medizinische Fakultät
zum Druck als Dissertation genehmigt.

Der Dekan der Medizinischen Fakultät:

Prof. Dr. *J. Dettling*.

Bern, den 25. Mai 1949.



Sonderdruck aus
«Schweiz. Zeitschrift für Allgemeine Pathologie und Bakteriologie»
Vol. XIII (1950), Fasc. 2

Diese Arbeit wurde im Institut für Hygiene und Bakteriologie der Universität Bern auf Anregung von Herrn PD. Dr. med. B. Fust ausgeführt. Meinem verehrten Lehrer möchte ich an dieser Stelle für sein reges Interesse und die wertvollen Ratschläge meinen besten Dank aussprechen.

*In Dankbarkeit
meinen lieben Eltern gewidmet*

Basierend auf Beobachtungen von C. Hallauer und B. Fust (5) aus dem Jahre 1944, stellten B. Fust und P. Grünig (3) 1946 fest, daß sich *verdünnte Vakzinevirus-Suspensionen* durch Zusatz von 10 000 O. E. Penicillin Lilly pro ccm bis zu einem gewissen Grade *inaktivieren* lassen, während *konzentrierte Aufschwemmungen* anscheinend *unbeeinflusst* bleiben. Virusverdünnungen von 1 : 100 in Penicillin ergaben sowohl bei cutaner als auch bei intracutaner Verimpfung auf Kaninchen dieselben Reaktionen wie im gleichen Verhältnis mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnte Kuhpockenlymphe.

Diese relative Unbeeinflußbarkeit des Vakzinevirus durch Penicillin veranlaßte uns, das Antibioticum auf seine Eignung zur selektiven Entkeimung von Dermovakzinen zu untersuchen.

Als Versuchspräparat benützten wir wiederum Penicillin-Natrium Lilly, das in physiologischer Kochsalzlösung aufgelöst wurde.

Pockenlymphe Nr. 850 wurde im Verhältnis 1 : 10 so mit Penicillinlösung verdünnt, daß wir pro ccm Penicillinkonzentrationen von 10 000 und von 1000 O. E. erhielten. Als Kontrollen dienten im Verhältnis 1 : 10 mit physiologischer Kochsalzlösung diluierter Pockenimpfstoff Nr. 850 und die entsprechende unverdünnte Glycerinlymphe. Außerdem emulgierten wir durch Einfrieren und Evakuieren am Flosdorf-Apparat getrockneten Rohstoff von Dermovakzine Nr. 850 in Penicillinlösung mit 10 000 O. E. pro ccm und verglichen das Präparat einerseits mit Trockenlymphe, die in analoger Weise mit physiologischer Kochsalzlösung zubereitet war, anderseits mit Glycerinlymphe Nr. 850.

Die eine Hälfte eines jeden Präparates wurde bei $+4^{\circ}\text{C}$, die

Eingegangen: 8. 4. 1949.

andere Hälfte bei $+20-22^{\circ}$ C aufbewahrt. 1, 8, 20, 32, 60 und teilweise auch 150 Tage nach der Herstellung nahmen wir Keimzählungen, qualitative bakteriologische Untersuchungen und Virustitrationen vor.

Keimzählungen.

Zur Bestimmung der Keimzahl zogen wir das von *B. Fust* (2) für die staatliche Prüfung von Pockenlymphnen in der Schweiz ausgearbeitete Verfahren heran, das wir für unsere Zwecke leicht modifizierten.

Die Dermovakzinen werden mit physiologischer Kochsalzlösung im Verhältnis 1 : 100, 1 : 500, 1 : 1000 und 1 : 5000 verdünnt. Dabei wird berücksichtigt, daß die mit Penicillin versetzten Glycerinlymphnen und das entsprechende Kontrollpräparat in physiologischer Kochsalzlösung bereits im Verhältnis 1 : 10 verdünnt sind. Von jeder Verdünnung verbringen wir je 1 ccm in 2 sterile Petri-Schalen, fügen auf ca. 56° C abgekühlten Nähragar hinzu, mischen unter Neigen und Drehen und bebrüten die erstarrten Medien bei 37° C. Es werden somit von jeder Verdünnung 2 Platten gegossen, wodurch wir 2 Serien erhalten. Nach 24stündiger Bebrütung zählen wir die Kolonien auf den Platten der ersten Serie, während die Keimzahl auf den Platten der zweiten Serie nach 48 Stunden bestimmt wird. In analoger Weise verarbeiten wir die einzelnen Verdünnungen zu Gelatineplatten, die wir bei $+20-22^{\circ}$ C bebrüten. Nach 48 Stunden zählen wir die Kolonien auf den Gelatineplatten der ersten Serie, nach 72 Stunden auf denjenigen der zweiten Serie. Außerdem streichen wir eine Normalöse (1/48 ccm) eines jeden Lymphpräparates auf je 6 Schottmüllersche Blutplatten. Wir verwenden hierzu die unverdünnten Zubereitungen. Mit Hilfe eines Drigalski-Spatels wird das auf jede Blutplatte aufgesetzte Impfstoffdepot von 1/48 ccm fein verteilt, worauf wir bei 37° C bebrüten. Nach 24 Stunden zählen wir die Kolonien auf der ersten Serie von 3 Platten, während wir die Keimzahl auf den 3 Platten der zweiten Serie nach 48 Stunden ermitteln.

Aus den mit den 3 Methoden gewonnenen durchschnittlichen Keimzahlen, berechnet auf je 1 ccm der unverdünnten Lymphnen, wird das arithmetische Mittel gezogen, das nach unseren Erfahrungen brauchbare Anhaltspunkte für den wirklichen Keimgehalt der Pockenimpfstoffe liefert.

Wir haben die arithmetischen Mittelwerte als *absolute Keimzahlen* der verschiedenen Präparate in die verschiedenen Präparate in die *Tabellen I und II* eingetragen.

TABELLE I.

Absolute Keimzahlen.

Aufbewahrung bei +4° C Tage	Pockenlymphe Nr. 850			
	mit 10 000 O.E. Penicillin/ccm.	mit 1000 O.E. Penicillin/ccm.	in phys. NaCl-Lösung	unver- dünnt
1	212	380	5 369	3790
8	255	350	6 375	4505
20	483	562	10 312	4256
32	1 660	1 940	12 613	3260
60	4 880	6 150	37 495	3133
150	8 560	12 920	111 725	2462
bei +20 bis 22° C				
Tage				
1	290	426	21 133	3415
8	1 240	1 470	142 595	3645
20	3 200	3 800	506 425	2915
32	15 120	16 820	2 027 495	2357
60	127 200	136 425	5 829 165	1449

TABELLE II.

Absolute Keimzahlen.

Aufbewahrung bei +4° C Tage	Pockenlymphe Nr. 850		Glycerin- lymphe
	getrocknet, emulgiert in Penicillinlösung mit 10 000 O.E. ccm	getrocknet, emulgiert in phys. NaCl-Lösung	
1	101	10 503	3790
8	89	26 766	4505
20	231	39 750	4256
32	489	42 817	3260
60	637	44 046	3133
150	1587	50 104	2462
bei +20° C			
Tage			
1	172	31 588	3415
8	1516	113 440	3645
20	4190	304 375	2915
32	5124	516 812	2357
60	7918	556 666	1449

Durch den Zusatz von Penicillin wird die Zahl der vermehrfähigen Begleitbakterien in allen 3 Präparaten schon binnen 24 Stunden ganz beträchtlich reduziert. Ist die Keimabnahme bereits im Vergleich mit der entsprechenden Glycerinlymphe offen-

sichtlich, so erreicht sie noch einen viel höheren Grad, wenn wir die Keimzahlen der wahren Kontrollzubereitungen in physiologischer Kochsalzlösung berücksichtigen. Die mit Penicillin versetzten Glycerinlymphe weisen während 20 Tagen einen niedrigen Keimgehalt auf, sofern sie bei $+4^{\circ}\text{C}$ aufbewahrt werden. Später nimmt die Keimzahl wieder zu, um nach 60 Tagen über diejenige der unverdünnten Glycerinlymphe anzusteigen. Sie bleibt aber noch immer ganz wesentlich hinter den Werten der mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnten Glycerinlymphe zurück. Erfolgt die Lagerung bei Zimmertemperatur, so ist der Penicillin-Effekt beinahe ephemer. Schon nach 8 Tagen nehmen die Keimzahlen wieder zu. Sie liegen nach 20 Tagen bereits etwas oberhalb des Keimgehaltes der unverdünnten Glycerinlymphe, halten sich aber während der ganzen Beobachtungsdauer im Rahmen von Bruchteilen des Keimgehaltes der in physiologischer Kochsalzlösung suspendierten Glycerinlymphe. Die in Penicillinlösung emulgierte Trockenlymphe bleibt bei der Aufbewahrung bei $+4^{\circ}\text{C}$ länger, nämlich 60 Tage relativ keimarm; aber auch nach 150 Tagen ist die Keimzahl wesentlich geringer als diejenige

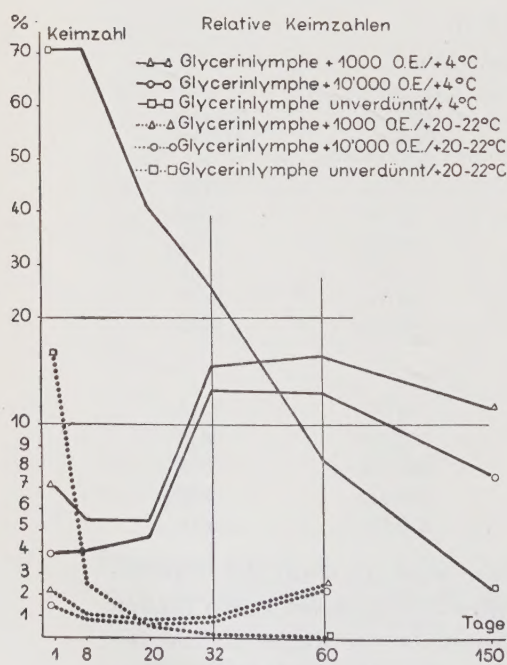


Fig. 1.

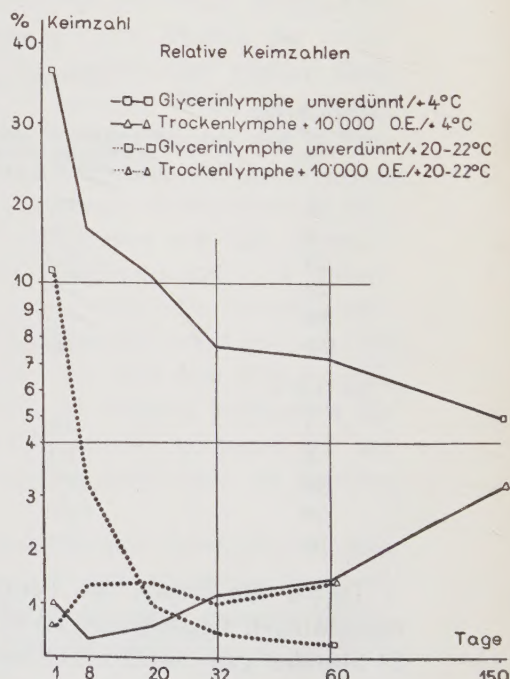


Fig. 2.

der unverdünnten Glycerinlymphe, und sie beträgt nur einen Bruchteil derjenigen des Kontrollpräparates in physiologischer Kochsalzlösung. Die Lagerung bei $+20^{\circ}\text{C}$ wirkt sich auch auf die in Penicillin emulgierte Trockenlymphe ungünstig aus. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen ähneln den Resultaten, die wir bei den mit Penicillin versetzten Glycerinlymphen beobachten.

In den *Fig. 1* und *2* haben wir die *relativen Keimzahlen* der mit Penicillin zubereiteten Glycerinlymphen und der in Penicillin emulgierten Trockenlymphe sowie der unverdünnten Glycerinlymphe, *bezogen auf den Keimgehalt der wahren Kontrollpräparate*, in physiologischer Kochsalzlösung (jeweiliger Keimgehalt = 100%) kurvenmäßig dargestellt.

Glycerin schädigt die Begleitkeime der Kuhpockenlymphe, wie das auch aus den Untersuchungsergebnissen zahlreicher anderer Autoren hervorgeht, bei $+4^{\circ}\text{C}$ verhältnismäßig langsam, aber kontinuierlich; bei $+20$ — 22°C ist der bakterizide Effekt intensiver. Diese Temperaturabhängigkeit tritt bei den mit Penicillin versetzten Glycerinlymphen ebenfalls in Erscheinung. Zudem ist die Penicillinwirkung bei $+20$ — 22°C relativ nachhaltiger als bei $+4^{\circ}\text{C}$, wo sich der Wiederanstieg der Keimzahl früher und in stärkerem Maße einstellt. Weniger regelmäßig, aber ähnlich, verhält sich die in Penicillin emulgierte Trockenlymphe.

Qualitative bakteriologische Untersuchungen.

Synchron mit den Keimzählungen versuchten wir, die Bakterienflora der verschiedenen Lymph Zubereitungen zu bestimmen.

Um die Keime anzureichern, beschicken wir je eine Eierbouillon und eine Leberbouillon mit je 0,2 ccm der unverdünnten Präparate. Nach ein- oder mehrtätiger Bebrütung bei 37°C werden die Kulturen mikroskopisch untersucht, die verschiedenen Keimarten auf hiezu geeigneten soliden Nährmedien isoliert und auf ihre morphologischen und kulturellen Eigentümlichkeiten geprüft. Da sämtliche Zubereitungen demselben Rohstoff Nr. 850 entstammen, fallen die bakteriologischen Untersuchungen weitgehend uniform aus. Haemolytische Streptokokken und pathogene Anaerobier fehlen. Die Penicillinwirkung äußert sich stets in gleicher Weise. Wir beschränken uns daher darauf, in der *Tabelle III* die *bakteriologischen Befunde* der mit 10 000 O. E. Penicillin versetzten Glycerinlymphe und der in Peni-

cillin emulgierten Trockenlymphe denjenigen der mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnten Glycerinlymphe gegenüberzustellen. Da die Aufbewahrungstemperatur ($+4^{\circ}\text{C}$ und $+20$ bis 22°C) die qualitative Zusammensetzung der Flora nicht beeinflußt, begnügen wir uns mit der Wiedergabe der Ergebnisse der bakteriologischen Untersuchungen nach der Lagerung bei $+4^{\circ}\text{C}$.

TABELLE III.

Pockenlymphe Nr. 859.

Keimarten	Glycerinlymphe mit 10 000 O.E. Penicillin pro cm^3						getrocknet, emulgiert in Penicillinlösung mit 10 000 O.E. pro cm^3						Glycerinlymphe in physiologischer Kochsalzlösung					
	Tage						Tage						Tage					
	1	8	20	32	60	150	1	8	20	32	60	150	1	8	20	32	60	150
Staphylococcus aureus haemolyticus					+	+						+	+	+	+	+	+	+
Staphylococcus albus haemolyticus					+	+					+	+			+	+	+	+
Staphylococcus albus anhaemolyticus	+	+			+	+					+	+			+	+	+	+
vergrünende Streptokokken					+	+							+	+	+	+	+	+
Enterokokken													+	+	+	+	+	+
Saprokokken	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+			+	+	+	+
B. Mesentericus	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Penicillin schädigt in selektiver Weise die fakultativ pathogenen Begleitbakterien der Pockenlymphe: Staphylococcus aureus haemolyticus, vergrünende Streptokokken und Enterokokken. Ebenso wird Staphylococcus albus haemolyticus unterdrückt, wohingegen Staphylococcus-albus-Stämme, welche die Fähigkeit der Haemolysinbildung eingebüßt haben, weniger beeinflußt werden. Saprokokken und Mesentericus-Bazillen bleiben stets nachweisbar. Außer den angeführten Keimen finden wir in einzelnen Lympheproben neben dem Bacillus mesentericus noch vereinzelt andere, teils plumpe, teils feinere grampositive, aerob wachsende, sporulierende Stäbchen, die in der Tabelle III nicht angeführt sind, weil sie in den dort figurierenden Präparaten nicht nachgewiesen wurden. Die selektive *Penicillinwirkung* auf die fakultativ pathogenen Kokken ist jedoch, mit Ausnahme derjenigen auf die Enterokokken, *nicht endgültig*, indem die Staphylokokken und teil-

weise auch die vergrünenden Streptokokken spätestens 60 Tage nach der Herstellung der Penicillinlymphe mit unserem groben Stichprobenverfahren wieder isoliert werden können.

Virustitrationen.

Parallel mit den Keimzählungen und den qualitativen bakteriologischen Untersuchungen führten wir Virustitrationen nach der von *Sobernheim* und seinen Mitarbeitern entwickelten „*Berner-Methode*“ aus.

Die Dermovakzinen werden unter stetem Pipettenwechsel so in physiologischer Kochsalzlösung suspendiert, daß wir rechnungsgemäß Virusverdünnungen von 1 : 10, 1 : 100, 1 : 1000, 1 : 5000, 1 : 10 000, 1 : 50 000 und 1 : 100 000 erhalten. Dabei berücksichtigen wir, daß die mit Penicillinlösung oder mit physiologischer Kochsalzlösung versetzten Glycerinlymphe bereits im Verhältnis 1 : 10 verdünnt sind, so daß wir die Ergebnisse aller Titrationen direkt miteinander vergleichen können. Wir verimpfen die Virusaufschwemmungen von 1 : 100 an aufwärts stets, diejenigen, die im Verhältnis 1 : 10 verdünnt sind, bloß nach Bedarf in Mengen von je 0,3 ccm cutan auf depilierte Kaninchen. Den einzelnen Titrationsreihen werden Leerkontrollen mit physiologischer Kochsalzlösung angeschlossen. An den damit behandelten skarifizierten Hautstellen beobachten wir keine pathologischen Veränderungen. Auf den Impffeldern schießen am 4. bis 5. Tage im Bereiche der Skarifikationslinien charakteristische Vakzinepusteln auf: am 6. oder 7. Tage sind die Effloreszenzen voll entwickelt und vom 8. oder 9. Tage an setzt allmählich die Heilung ein. Als Maßstab für die Beurteilung der Virusschädigung durch Penicillin dient uns in erster Linie die Abnahme des Titers in den Penicillinlymphe im Vergleich zur Kochsalzlymphe und zum unverdünnten glycerinierten Impfstoff, in zweiter Linie der Intensitätsunterschied der Impfreaktionen. *Fig. 3* erlaubt einen *Überblick über die Ergebnisse der Virustitrationen.*

Durch die Lagerung bei $+4^{\circ}$ C wird das Vakzinevirus am besten in Form der unverdünnten Glycerinlymphe konserviert. In physiologischer Kochsalzlösung und in Penicillinlösung mit 1000 O. E. suspendiertes Kuhpockenvirus vermag den Titer während 60 Tagen zu halten. Auch die Intensitätsunterschiede der Impfreaktionen sind unbedeutend. Durch den Zusatz von 10 000 O. E. Penicillin pro ccm wird die Glycerinlymphe schon von An-

Pockenlymphe Nr. 850

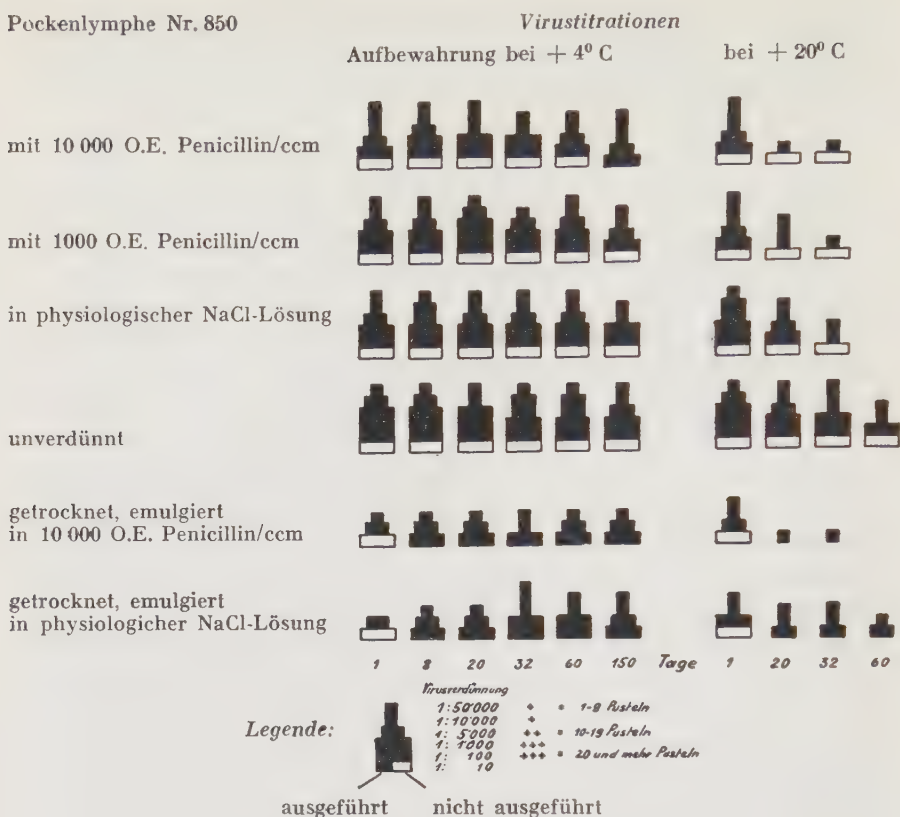


Fig. 3.

fang an in leichtem Grade geschädigt, indem die Impfreaktionen schwächer ausfallen. Nach 32 Tagen sinkt der Titer von 1 : 50 000 auf 1 : 10 000 ab. Höhere Temperatur (+ 20—22° C) schädigt das Vakzinevirus in allen Fällen, jedoch am wenigsten in der unverdünnten Glycerinlymphe. Die Trockenlymphe haben von Anfang an einen niedrigen Titer, gleichgültig ob sie in Penicillinlösung mit 10 000 O. E. oder in physiologischer Kochsalzlösung emulgiert sind, behalten aber ihre bescheidene Wirksamkeit während 150 Tagen, sofern sie bei + 4° C gelagert werden. Bei + 20—22° C ist das Präparat in physiologischer Kochsalzlösung, in bezug auf den Virusgehalt, deutlich der Penicillin-Zubereitung überlegen.

Seit dem Abschluß unserer experimentellen Untersuchungen im Oktober 1946 erschienen Publikationen verschiedener Au-

toren, die sich, zum Teil mit differenter Technik, um die Lösung des gleichen Problems bemühten.

So stellten *E. Morin* und *H. Turcotte* (6, 7, 8) fest, daß Penicillin die meisten kommensalen Bakterien der Kuhpockenlymphe schädigt. Um das Auskeimen von Anaerobiersporen (*Cl. perfringens* und *Cl. Fallax*) zu verhindern, mußten sie einen minimalen Penicillinspiegel von 56 O. E. pro ccm Lymphe aufrechterhalten. Ihre Penicillinlymphe war sowohl im Tierversuch wie auch bei der Primovakzination von Kindern wirksam. Besondere Erwähnung verdient die Tatsache, daß die Reaktionen bei den mit Penicillinlymphe geimpften Kindern weniger heftig ausfielen als bei der Verwendung gewöhnlichen Kuhpocken-Impfstoffes.

R. Fasquelle (1) versetzte Glycerinlymphe mit 1000 O. E. Penicillin pro ccm und fand, daß das Präparat sozusagen sofort fast vollständig von Begleitkeimen (hauptsächlich Staphylokokken) befreit war. Es schien aber nur so, indem sich bei den Keimzählungen die niedrigen Virusverdünnungen als bakterienfrei erwiesen, während die höheren Dilutionen Wachstum von einzelnen Staphylokokken-Kolonien ergaben. Der Penicillineffekt hielt 30 Tage an, gleichgültig, ob die Penicillinlymphe bei 0° C oder bei Zimmertemperatur aufbewahrt wurde. Auch bestätigte *Fasquelle*, daß die Virusaktivität durch die Penicillinbehandlung nicht beeinflußt wird (Neuro-, Allantois-, Hodenvirus und Dermovakzine).

Ch. Gernez, *A. Sévin* und *M^{me} G. d'Halluin* (4) fügten pro g verschiedener stark bakteriell verunreinigter Rohstoffe 2000 bis 10 000 O. E. Penicillin hinzu und beobachteten nach einer Einwirkungszeit von einigen Stunden bei + 4° C eine Keimabnahme, die jedoch bloß transitorischen Charakter hatte. Dagegen konnten sie ebenfalls demonstrieren, daß der Zusatz von Penicillin zu Glycerinlymphe eine bedeutende Reduktion der Keimzahl herbeiführt. Nach ihren Befunden wurde das Penicillin um so rascher durch Glycerin inaktiviert, je höher die Glycerinkonzentration war. Sie bekamen jedoch den Eindruck, als ob das Penicillin während der Zeit, wo es aktiv blieb, die Begleitkeime für die spätere antiseptische Wirkung des Glycerins vorbereitet hätte.

Nach *P. Nélis* (9, 10) verhält sich das Penicillin gegenüber den bakteriellen Verunreinigungen des Kuhpockenimpfstoffes nicht wie ein echtes Antisepticum, sondern es bewirkt lediglich eine Scheindesinfektion. Durch Zugabe von Penicillinase gewinnen die

anfänglich unterdrückten Keime ihre Vermehrungsfähigkeit wieder zurück, und das durch Subtilispenicillinase zerstörte Penicillin soll auf die Begleitbakterien der Dermovakzine sogar einen stimulierenden Einfluß ausüben (*P. Nélis* und *A. Lafontaine*, 11).

Zusammenfassung.

1000 oder 10 000 O. E. Penicillin pro ccm Kuhpockenlymphe reduzieren die Zahl der Begleitbakterien binnen 24 Stunden beträchtlich. Bei $+4^{\circ}$ C bleiben so behandelte Glycerinlympphen 3 Wochen, Trockenlympphen 2 Monate keimarm. Glycerin beschleunigt die Inaktivierung des Penicillins. — Penicillin wirkt selektiv bakteriostatisch auf die fakultativ pathogenen Begleitbakterien des Kuhpockenimpfstoffes. — Bei $+4^{\circ}$ C wird der Virusgehalt durch 1000 O. E. Penicillin pro ccm Glycerinlymphe während 60 Tagen nicht beeinflußt. Größere Penicillinmengen und höhere Temperatur schädigen das Virus. Mit Penicillin versetzter Trockenimpfstoff behält seinen Titer während 150 Tagen. Die Kombination von Glycerin mit Penicillin begünstigt die Virusinaktivierung.

Résumé.

Le nombre de germes qui souillent la lymphe vaccinale est considérablement réduit par 1.000 ou 10.000 U. de pénicilline et cela dans les 24 heures qui suivent son adjonction. Des lymphes glycinées traitées de cette façon et conservées à $+4^{\circ}$ C. restent pendant 3 semaines, des lymphes desséchées pendant 2 mois pauvres en germes. La glycérine accélère l'inactivation de la pénicilline, dont l'action bactériostatique est sélective pour les germes facultativement pathogènes qui souillent la lymphe. L'addition de 1.000 U. de pénicilline par cc. de lymphe glycinée conservée pendant 60 jours à $+4^{\circ}$ C. reste sans effet sur le taux de virus. Des concentrations plus fortes de pénicilline et une température plus élevée lui sont nuisibles. Le vaccin sec additionné de pénicilline conserve son titre pendant 150 jours. La combinaison glycérine-pénicilline accélère l'inactivation du virus.

Riassunto.

Da 1.000 a 10.000 unità di penicillina per cc. di vaccino anti-vaioloso riducono in 24 ore il numero dei batteri in esso contenuto in modo notevole. Dopo un tale trattamento, il vaccino in

glicerina si conserva povero in germi, alla temperatura di $+4^{\circ}$ C., 3 settimane, quello secco 2 mesi. La glicerina accelera l'inattivazione della penicillina. La penicillina agisce selettivamente come batteriostatico verso i germi patogeni facoltativi contenuti nel vaccino. Alla temperatura di $+4^{\circ}$ C. il contenuto in Virus non viene durante 60 giorni affatto modificato dall'aggiunta di 1,000 unità di penicillina per cc. Quantità maggiori di penicillina o temperature più elevate danneggiano il virus. Vaccino secco trattato con penicillina conserva il suo titolo durante 150 giorni. La combinazione glicerina-penicillina favorisce l'inattivazione del virus.

Summary.

The addition of 1,000 to 10,000 O. U. of penicilline per c.c. of cow pox lymph effects a considerable reduction of the bacterial content within 24 hours. Penicillin-treated lymph kept at 4° C. shows a low bacterial content during three weeks, dried lymph during two months. Glycerine accelerates the inactivation of penicilline. Penicilline exhibits a selective bacteriostatic action on the facultative pathogenic bacterial flora of cow pox vaccine. Glycerinated lymph containing 1,000 U. of penicilline per c.c. and kept at 4° C. showed no loss of infectivity after 60 days. Greater concentration of penicilline and higher temperatures have an unfavourable influence on the virus. Dry vaccine containing penicilline kept its activity during 150 days. The combination of glycerine and penicilline favours the inactivation of the virus.

Literatur.

1. R. Fasquelle: C. r. Soc. Biol. 141, 37 (1947). — 2. B. Fust: Bull. eidg. Gesundheitsamt 1941, 100, 117. — 3. B. Fust und P. Grünig: Schweiz. Zschr. Path. u. Bakt. 9, 445 (1946). — 4. Ch. Gernez, A. Sevin und Mme G. d'Halluin: C. r. Soc. Biol. 141, 1235 (1947). — 5. C. Hallauer und B. Fust: Schweiz. Zschr. Path. u. Bakt. 7, 380 (1944). — 6. J.-E. Morin und H. Turcotte: Canad. J. med. Research, 24, 149 (1946). — 7. J.-E. Morin und H. Turcotte: Laval, Med., Canada 1947, 431. — 8. J.-E. Morin und H. Turcotte: Ann. Inst. Pasteur, Paris, 73, 591 (1947). — 9. P. Nélis: Rev. d'Immunol. 12, 43 (1948). — 10. P. Nélis: C. r. Soc. Biol. 142, 566 (1948). — 11. P. Nélis und A. Lafontaine: C. r. Soc. Biol. 142, 567 (1948).
-

